12-11

One-step qPCR Kit

RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix

(Code No. QRT-201、QRT-201X5)

取扱説明書

TOYOBO CO., LTD. Life Science Department
OSAKA JAPAN

A3587K

ー 目 次 ー

[1] はじめに ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1
[2] 製品内容 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 3
[3] 製品のほかに用意するもの ・・・・・・・・・・・・・・・・・ 4
[4] 使用方法 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 6
[5] 関連プロトコル ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12
[6] トラブルシューティング ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
[7] 関連商品 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 15

ご注意

本キットに含まれる試薬は、すべて研究用試薬です。診断・臨床用試薬として決して使用しないでください。本キットの使用にあたっては、実験室での一般の注意事項を厳守し、安全に留意してください。

NOTICE TO PURCHASER: LIMITED LICENSE

Use of this product is covered by one or more of the following US patents and corresponding patent claims outside the US: 5,079,352, 5,789,224, 5,618,711, 6,127,155, 5,407,800, 5,322,770, 5,310,652, and claims outside the US corresponding to US Patent No. 4,889,818. The purchase of this product includes a limited, non-transferable immunity from suit under the foregoing patent claims for using only this amount of product for the purchaser's own internal research. No right under any other patent (such as the patented 5' Nuclease Process claims in US Patents Nos. 5,210,015 and 5,487,972) and no right to perform commercial services of any kind, including without limitation reporting the results of purchaser's activities for a fee or other commercial consideration, is conveyed expressly, by implication, or by estoppel. This product is for research use only. Diagnostic uses under Roche patents require a separate license from Roche. Further information on purchasing licenses may be obtained by contacting the Director of Licensing, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA

※LightCycler™ は、Idaho Technology Inc.並びに Roche Molecular Systems Inc.の商標です。
※SYBR®は、Molecular Probes Inc.の登録商標です。

[1] はじめに

***RNA-direct*™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix** は、*Thermus thermophilus* HB8 株由来の組換型耐熱性 DNA ポリメラーゼである r*Tth* DNA Polymerase が、2 価のマンガンイオン(Mn^{2+})存在下において強い逆転写活性を示すことを利用した、1 酵素系によるワンステップリアルタイム PCR 用 2x マスターミックスです。逆転写反応と PCR とを同一の反応系で連続的に行うため、試薬の分注操作が 1 回で済み、ハイスループット化に適しています。また、サンプル間のクロスコンタミネーションの危険性も低減します。

***RNA-direct*™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix** は、SYBR® Green I があらかじめ混合されていますので、未標識のプライマーを用いたインターカレーターアッセイ法によるリアルタイム PCR を簡単に実施することができます。

◆本製品の特長◆

1. 逆転写反応とリアルタイム PCR を同一の反応系で実施

RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix は、RNA を鋳型として、逆転写反応とPCR を同一の反応系で連続的に行うため、実験系の迅速化、ハイスループット化に適しています。またサンプル間のクロスコンタミネーションの危険性も低減します。

2. 立体構造を取りやすい RNA 鋳型や、GC-rich な標的配列にも対応

RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix は、逆転写反応と PCR を単一の耐熱性酵素 r*Tth* DNA Polymerase で行います。耐熱性酵素を用いた逆転写は、一般の逆転写酵素と比較して、反応を高温で実施できるため、立体構造をとりやすい鋳型 RNA の反応に適しています。また、r*Tth* DNA Polymerase は GC-rich な配列の増幅に有効であることが知られており、リアルタイム PCR においても同様に高い増幅効率を期待することができます。

3. 高速ホットスタート

RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix は、抗 DNA ポリメラーゼ抗体を用いたホットスタートシステムを採用しています。抗体を用いたホットスタートは非特異反応の抑制に強力な効果を示し、また、加熱によって速やかに抗体が失活するため、酵素の再活性化も迅速であり、鋳型 RNA や酵素への高温によるダメージを最小限に抑えることができます。

4. 高い汎用性

RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix は、汎用チューブを用いる LineGene (BioFlux 社)の他、ガラスキャピラリーを用いる LightCycler™ (Roche Diagnostics 社)、passive reference 色素を利用する Applied Biosystems 社製 Realtime PCR 装置等、さまざまなリアルタイム PCR 装置に幅広く適合しています。

[2] 製品内容

本製品には、以下のパーツが含まれています。

品名および内容	保存	QRT-201 (50µl 反応 x 100 回用)	QRT-201X5
RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix	-20°C (または 4°C で 2 ヶ月以内) 遮光保存	500µl x 5	(QRT-201) x 5
50mM $Mn(OAc)_2$	-20°C	500µl x 1	

<u>*RNA-direct*™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix</u>

反応バッファー、dNTPs、r*Tth* DNA ポリメラーゼ及び抗 DNA ポリメラーゼ抗体などの PCR 反応組成に加え、passive reference 色素および SYBR® Green I を含む 2x 反応溶液です。鋳型 RNA、プライマー、$Mn(OAc)_2$ 溶液を添加し、RNase-free 水で 1x 濃度に調製して使用してください。

-20°C で凍結保存してください。融解後はゆるやかに混和し、溶液を均質化した上でご使用ください。使用後は、-20°C で再度凍結保存してください。ただし、凍結融解の繰り返しは、10 回程度では品質には影響しませんが、なるべく避けてください。一度の使用量が少ない場合は、小分注して保存することをお勧めします。なお、短期間(おおよそ 2 ヶ月以内)であれば、4°C で遮光の上、冷蔵保存することもできます。

<u>50mM $Mn(OAc)_2$</u>

反応に必要なマンガンイオンの溶液です。通常は反応系に 1/20 volume (終濃度 2.5mM)となるように添加しますが、ターゲットとなる RNA の濃度や種類によっては、添加量を増減させることによりパフォーマンスが向上する場合がありますので、適宜調整してご使用ください。

-20°C で保存してください。

[3] 製品のほかに用意するもの

本製品の他に、以下の試薬・機器類をご用意ください。

・リアルタイム PCR 装置

本製品は、LineGene (BioFlux 社)、Applied Biosystems 社製 Realtime PCR 装置、LightCycler™ (Roche Diagnostics 社) など、各種リアルタイム PCR 装置にご使用頂けます。ご使用にあたっては各装置の取扱説明書に従ってください。

・プライマー

目的遺伝子配列に対応したプライマーセットをご用意ください。高感度で定量性のあるデータを得るためには、プライマーの設計が最も重要となります。

以下に、設計時の一般的な注意事項を挙げます。

- プライマーは未標識のものを使用し、長さは20-30mer、GC含量は40-60%に設定します。
- 増幅領域の長さは200bp以下に設定します。長すぎると増幅効率が低下し、また非特異反応も起こりやすくなるため、検出感度が低下します。
- 増幅領域は可能であればイントロンをはさんだ領域に設定します。これにより、ゲノムDNA由来の増幅を防ぐことができます。

・RNase-free 水

フィルター濾過により調製された RNase-free 水の使用をお勧めします。ジエチルピロカーボネート(DEPC)処理水を使用する場合は、DEPC の残留により反応が阻害されることがありますので、オートクレーブを十分に行って DEPC を完全に除去してください。また、リアルタイム PCR に使用する RNase-free 水は、核酸の混入を防ぐため、他の実験用とは別に保存し、共用しないことをお勧めします。

・Total RNA

本製品では、Total RNA を直接、鋳型として用いることができます。AGPC(Acid Guanidium - Phenol - Chloroform)法などの標準的な方法により精製された Total RNA には、ゲノム DNA が混入しています。ゲノム DNA の混入は、特に偽遺伝子が多く存在するターゲットを検出する際等に偽陽性シグナルを発生させる原因となりますので、必要に応じて、DNase I 等を用いてゲノム DNA を除去してください。

組織、培養細胞等から得られた Total RNA には、発現解析の対象となる mRNA が通常 1-2%程度含まれています。

・poly(A)$^+$ RNA (mRNA)

poly(A)$^+$ RNA は、oligo(dT)とのハイブリダイゼーションを利用して polyA 末端を有する mRNA のみを選択的に分離したものです。精製段階で mRNA を濃縮できるため、mRNA を高感度で検出したい場合に有用です。ただし、Total RNA に比べてリボヌクレアーゼ(RNase)による分解を受けやすいため、取り扱いには注意してください。

[4] 使用方法

1. LineGene (BioFlux 社) を用いる SYBR® Green アッセイ

(1)反応液の調製

反応液組成(一例)

Distilled Water (RNase-free grade)	up to 10 µl
RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix	5 µl
50mM $Mn(OAc)_2$	0.5 µl (終濃度 2.5mM)
Sense Primer	2 pmol (終濃度 0.2µM)
Antisense Primer	2 pmol (終濃度 0.2µM)
RNA sample	<500ng
Total volume	10 µl

・Distilled Water は RNase-free グレードのもの(RNase-free 水)をご使用ください。フィルター濾過により調製された RNase-free 水の使用をお勧めします。ジエチルピロカーボネート(DEPC)処理水を使用する場合は、DEPC の残留により反応が阻害されることがありますので、オートクレーブを十分に行って DEPC を完全に除去してください。また、リアルタイム PCR に使用する RNase-free 水は、他の実験用とは別に保存し、共用しないでください。

・プライマーの添加量は各々2-6 pmol (最終濃度 0.2-0.6µM)を目安にご検討ください。増幅効率がよくない場合、添加量を増やすことによりパフォーマンスが向上する場合がありますが、逆に入れすぎると非特異反応の原因となります。

・$Mn(OAc)_2$ 添加量は最終濃度 2.5mM を基本としていますが、RNA サンプルの濃度や増幅ターゲットの配列によっては $Mn(OAc)_2$ 濃度を増減させることにより、より良好な結果を得ることができる場合があります。

・RNA サンプルの添加量は、Total RNA であれば 500ng 以下、poly(A)$^+$ RNA (mRNA)の場合であれば 100ng 以下を目安としてください。過剰量の添加は反応効率低下の原因となり、十分な直線性が得られない場合があります。

(2)PCR の実施

RT-PCR 温度設定(一例)

Denature 1	90°C	0:30	
|			
RT	61°C	20:00	
|			
Denature 2	95°C	0:30	
|			
PCR Cycle	95°C	0:15	
(45 Cycles)	55°C	0:15	
	74°C	0:30	(data collection)
|			
Melting Curve Analysis			

・本製品では高速ホットスタートシステム(p.2 参照)を採用していますので、最初の変性ステップ(Denature 1)における酵素の再活性化は 90°C、30 秒間で十分に行うことができます。必要以上の加熱処理は、酵素活性を低下させ、また鋳型 RNA の安定性にも悪影響を及ぼす可能性があります。
・PCR のアニーリング温度は、プライマーの Tm などにより、55-65°C 程度を目安に調節してください。プライマーによっては、その範囲外に最適値がある場合もあります。
・リアルタイム PCR は一般的に長鎖の増幅を行なわないので、伸長時間の調節は不要です。
・蛍光検出チャンネルは、Channel F1 を使用します。
・上記は 3 ステップ PCR での例ですが、2 ステップ PCR による反応も可能です。その場合は、data collection はアニール・伸長ステップに設定してください。

BioFlux LineGene は、高いコストパフォーマンスを実現した 33 フォーマット・パーソナルタイプのリアルタイム・モニタリング装置です。汎用の 0.2µl PCR 用チューブが使用可能で、10µl の液量で反応を行うことができ、ランニングコストも安価に抑えることができます。

2. Applied Biosystems 7900HT を用いる SYBR® Green アッセイ

(1)反応液の調製

反応液組成(一例)

Distilled Water (RNase-free grade)	up to 50 µl
RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix	25 µl
50mM $Mn(OAc)_2$	2.5 µl (終濃度 2.5mM)
Sense Primer	10 pmol (終濃度 0.2µM)
Antisense Primer	10 pmol (終濃度 0.2µM)
RNA sample	<2.5µg
Total volume	50 µl

・Distilled Water は RNase-free グレードのもの(RNase-free 水)をご使用ください。フィルター濾過により調製された RNase-free 水の使用をお勧めします。ジエチルピロカーボネート(DEPC)処理水を使用する場合は、DEPC の残留により反応が阻害されることがありますので、オートクレーブを十分に行って DEPC を完全に除去してください。また、リアルタイム PCR に使用する RNase-free 水は、他の実験用とは別に保存し、共用しないでください。

・プライマーの添加量は各々10-30 pmol (最終濃度 0.2-0.6µM)を目安にご検討ください。増幅効率がよくない場合、添加量を増やすことによりパフォーマンスが向上する場合がありますが、逆に入れすぎると非特異反応の原因となります。

・$Mn(OAc)_2$ 添加量は最終濃度 2.5mM を基本としていますが、RNA サンプルの濃度や増幅ターゲットの配列によっては $Mn(OAc)_2$ 濃度を増減させることにより、より良好な結果を得ることができる場合があります。

・RNA サンプルの添加量は、Total RNA であれば 2.5µg 以下、poly(A)$^+$ RNA (mRNA)の場合であれば 500ng 以下を目安としてください。過剰量の添加は反応効率低下の原因となり、十分な直線性が得られない場合があります。

(2)PCR の実施

RT-PCR 温度設定(一例)

Denature 1	90°C	0:30	
|			
RT	61°C	20:00	
|			
Denature 2	95°C	1:00	
|			
PCR Cycle	95°C	0:15	
(45 Cycles)	55°C	0:15	
	74°C	0:45	(data collection)
|			
Melting Curve Analysis			

・本製品では高速ホットスタートシステム(p.2 参照)を採用していますので、最初の変性ステップ(Denature 1)における酵素の再活性化は 90°C、30 秒間で十分に行うことができます。必要以上の加熱処理は、酵素活性を低下させ、また鋳型 RNA の安定性にも悪影響を及ぼす可能性があります。
・PCR のアニーリング温度は、プライマーの Tm などにより、55-65°C 程度を中心に調節してください。プライマーによっては、その範囲外に最適値がある場合もあります。
・Detector は Reporter: SYBR、Quencher: None Flurorescent に設定します。また、Passive Reference は ROX に設定してください。詳細は装置の取扱説明書をご参照ください。
・リアルタイム PCR は一般的に長鎖の増幅を行なわないので、伸長時間の調節は不要ですが、変更する場合、data collection のステップは 30 秒以上確保する必要があります。
・上記は 3 ステップ PCR での例ですが、2 ステップ PCR による反応も可能です。その場合は、data collection はアニール・伸長ステップに設定してください。
・上記は Applied Biosystems 7900HT における Standard モードでの例です。Fast モードでの SYBR® Green アッセイは機器の製造元より推奨されていませんのでご注意ください。

3. LightCycler™ (Roche Diagnostics 社)を用いる SYBR® Green アッセイ

(1)反応液の調製

反応液組成(一例)

Distilled Water (RNase-free grade)	up to 20 µl
RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix	10 µl
50mM $Mn(OAc)_2$	1 µl (終濃度 2.5mM)
Sense Primer	4 pmol (終濃度 0.2µM)
Antisense Primer	4 pmol (終濃度 0.2µM)
RNA sample	<1µg
Total volume	20 µl

・Distilled Water は RNase-free グレードのもの(RNase-free 水)をご使用ください。フィルター濾過により調製された RNase-free 水の使用をお勧めします。ジエチルピロカーボネート(DEPC)処理水を使用する場合は、DEPC の残留により反応が阻害されることがありますので、オートクレーブを十分に行って DEPC を完全に除去してください。また、リアルタイム PCR に使用する RNase-free 水は、他の実験用とは別に保存し、共用しないでください。

・プライマーの添加量は各々4-12 pmol (最終濃度 0.2-0.6µM)を目安にご検討ください。増幅効率がよくない場合、添加量を増やすことによりパフォーマンスが向上する場合がありますが、逆に入れすぎると非特異反応の原因となります。

・$Mn(OAc)_2$ 添加量は最終濃度 2.5mM を基本としていますが、RNA サンプルの濃度や増幅ターゲットの配列によっては $Mn(OAc)_2$ 濃度を増減させることにより、より良好な結果を得ることができる場合があります。

・RNA サンプルの添加量は、Total RNA であれば 1µg 以下、poly (A)+ RNA (mRNA)の場合であれば 200ng 以下を目安としてください。過剰量の添加は反応効率低下の原因となり、十分な直線性が得られない場合があります。

(2)PCR の実施

RT-PCR 温度設定(一例)

Denature 1	90°C	0:30	
|			
RT	61°C	20:00	
|			
Denature 2	95°C	0:30	
|			
PCR Cycle	95°C	0:05	
(45 Cycles)	55°C	0:10	
	74°C	0:15	(data collection)
|			
Melting Curve Analysis			

・本製品では高速ホットスタートシステム(p.2 参照)を採用していますので、最初の変性ステップ(Denature 1)における酵素の再活性化は 90°C、30 秒間で十分に行うことができます。必要以上の加熱処理は、酵素活性を低下させ、また鋳型 RNA の安定性にも悪影響を及ぼす可能性があります。
・PCR のアニーリング温度は、プライマーの Tm などにより、55-65°C 程度を目安に調節してください。プライマーによっては、その範囲外に最適値がある場合もあります。また、プライマーダイマーなどの非特異反応が見られる場合は、本ステップを 5 秒程度まで短縮することで改善される場合があります。
・伸長時間は、増幅領域が 200bp 以内であれば通常は 15 秒で十分ですが、状況に応じて調節してください。ただし data collection のステップは 10 秒以上確保する必要があります(装置の検出動作のため)。
・Detector は F1 で実施してください。
・上記は 3 ステップ PCR での例ですが、2 ステップ PCR による反応も可能です。その場合は、data collection はアニール・伸長ステップに設定してください。
・本製品では全てのステップでランプ速度(Temperature Transition Rate)を最高速の 20°C/sec に設定することが可能です。ただし、増幅効率が思わしくない場合は、アニーリングステップと伸長ステップとの間を 2°C/sec まで減速することで効率が改善される場合があります。

[5] 関連プロトコル

● Total RNA の DNase I 処理

AGPC(Acid Guanidium-Phenol-Chloroform)法などの標準的な方法により精製された Total RNA にはゲノム DNA が混入しています。必要に応じて、下記の方法によりゲノム DNA を除去してください。

(1)反応液調製

反応液組成(一例)

Distilled Water (RNase-free grade)	up to 10 µl
Total RNA	X µg
10x DNase I Buffer	1 µl
RNase-free DNase I (10U/µl)	0.5 µl
Total volume	10 µl

(2)反応と精製

上記反応組成液を調製し、氷上で 10 分から 30 分間静置して反応させます。
↓
反応液に 100µl の Distilled Water、100µl の TE 飽和フェノールを添加し、ボルテックス等で混合した後、氷上で 5 分間静置します。
↓
12,000rpm、5 分間の遠心分離を行い、上清を回収します。
↓
100µl のクロロホルムを添加し、混合します。
↓
12,000rpm、5 分間の遠心分離を行い、上清を回収します。
↓
5µl の 20mg/ml グリコーゲン(共沈剤)、100µl の 5M 酢酸アンモニウム、200µl のイソプロパノールを添加し、混合した後、-20°C で 30 分間静置します。
↓
12,000rpm、5 分間の遠心分離を行い、上清を廃棄します。
↓
沈殿に 70%エタノールを加えます。
↓
12000rpm、5 分間の遠心分離を行い、上清を廃棄します。
↓
沈殿に適量の Distilled Water を加え、溶解します。

[6] トラブルシューティング

1. 増幅がみられない、乱れる

原因	対策
検出機器の設定などがSYBR® Green Iに適合していない	検出機器の設定を適正化して再解析してください。
data collection の設定が不適切	SYBR® Green アッセイでは通常、伸長ステップの最後にdata collectionを設定します。設定を確認し、適正化して再実験してください。
サンプル位置の設定ミス	入力したサンプル番号と、機器にセットしたサンプルの位置が合っているか確認し、適正なサンプル位置を設定して再解析、あるいは再実験してください。
その他装置の故障・不具合	各装置の取扱説明書に従い、点検してください。
PCR反応条件・プライマーの濃度・配列などが不適切	プライマー濃度やPCR反応条件の変更をご検討ください。増幅が悪い場合は、一般的にアニーリング温度を下げる、アニーリング時間を長くするか、プライマー濃度を上げてみます。まれに、逆にアニーリング温度を上げることや、伸長時間の延長などで向上することもあります。ランプ速度を遅くすることで感度が改善される場合があります。また、GC 含量の高いターゲットでは、変性時間を延長することで、改善することもあります。それでも不良の場合は、プライマー再設計をお勧めします。
サンプルの純度が悪い	RNase の作用により鋳型 RNA が分解されている可能性があります。ピペット等の器具類は RNA 取扱専用のものを使用し、RNA を再調製してください。

2. 定量値がばらつく

原因	対策
装置の故障・不具合	装置の不具合により、温度管理や検出にばらつきが生じている場合があります。各装置の取扱説明書に従い、点検してください。
サンプルの純度が悪い	純度が悪いサンプルは、ばらつきの原因となります。均質なサンプルをご使用ください。また、サンプル中のゲノム DNA の残留により、ゲノム DNA 由来の増幅産物が検出されることがあります。DNase I 処理によりゲノム DNA の除去を行ってください。

2. 定量値がばらつく(つづき)

原因	対策
PCR 反応条件・プライマーの濃度・配列などが不適切	PCR の増幅効率が悪い場合は、ばらつきも大きくなる傾向があります。プライマー濃度や PCR 反応条件の変更をご検討ください。増幅が悪い場合は、一般的にアニーリング温度を下げる、アニーリング時間を長くするか、プライマー濃度を上げてみます。伸長時間の延長などでも向上することがあります。また、GC 含量の高いターゲットでは、変性時間を長くすることで、改善することがあります。それでも、ばらつきが大きい場合は、プライマーの再設計をおすすめします。
計量のばらつき	多くのリアルタイム PCR 装置では、推奨反応スケールよりも少量の液量で検出が可能ですが、検出感度や正確性が低下する場合があります。反応スケールを上げて推奨液量で再実験してください。

3. ブランクサンプルにシグナルがみられる(融解曲線分析を実施してご判断ください)。

原因	対策
陽性サンプルや PCR 産物のコンタミネーション (ターゲットと同じピークの増幅産物がブランクサンプルで検出される場合)	まずは、ブランクに用いたサンプル(水)を更新してください。それでも発生する場合は、使用する蒸留水やプライマー、試薬などを更新して再検討してください。
プライマーダイマーなど非特異反応の発生 (ターゲットと異なるピークの増幅産物がブランクサンプルで検出される場合)	プライマー濃度やPCR反応条件の変更をご検討ください。非特異反応が出る場合は、アニール温度を上げる、アニール時間、伸長時間を短くするか、プライマー濃度を下げてみます。3 ステップ化も効果があることがあります。それでも発生する場合は、プライマー再設計をお勧めします。

[7] 関連商品

特異性の高いプローブアッセイによる One-step Realtime PCR 用試薬

品名	内容	Code No.
One-step Realtime PCR 用マスターミックス (プローブアッセイ用) ***RNA-direct*™ Realtime PCR Master Mix**	500µl×5 本 (500µl×5 本)×5	QRT-101 QRT-101×5

RNA 調製関連試薬

品名	内容	Code No.
Total RNA 精製キット **MagExtractor™ -RNA-**	100 回用	NPK-201F
磁性ビーズによる精製を簡単に行う専用磁性スタンド **Mag*ical Trapper***	1 個	MGS-101

リアルタイム PCR 関連試薬

品名	内容	Code No.
リアルタイム PCR 用マスターミックス (プローブアッセイ用) **Realtime PCR Master Mix**	1ml×5 本 (1ml×5 本)×5	QPK-101 QPK-101X5
リアルタイム PCR 用マスターミックス (SYBR Green アッセイ用) **SYBR® Green Realtime PCR Master Mix**	1ml×5 本 (1ml×5 本)×5	QPK-201 QPK-201X5
信頼性がさらに向上したリアルタイム PCR 用マスターミックス (SYBR Green アッセイ用) **SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-**	1ml×5 本 (1ml×5 本)×5	QPK-212 QPK-212X5
各種蛍光プローブ・蛍光プライマー検出系用 リアルタイム PCR 試薬 **THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix**	1ml×1 本 1.67ml×3 本 (1.67ml×3 本)×5	QPS-101T QPS-101 QPS-101X5
SYBR® Green I 検出系用リアルタイム PCR 試薬 **THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix**	1ml×1 本 1.67ml×3 本 (1.67ml×3 本)×5	QPS-201T QPS-201 QPS-201X5
リアルタイム PCR 用 cDNA 合成キット **ReverTra Ace® qPCR RT Kit**	200 回用	FSQ-101
リアルタイム PCR 用 cDNA 合成マスターミックス **ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix**	200 回用	FSQ-201
ゲノム DNA 除去試薬をプラスしたリアルタイム PCR 用 cDNA 合成試薬 **ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover**	200 回用	FSQ-301
高伸長性・高反応効率の改良型逆転写酵素 **ReverTra Ace®**	10,000U×1 本 (10,000U×1 本)×5 (10,000U×1 本)×10	TRT-101 TRT-101X5 TRT-101X10
ゲノム DNA の混入を抑えた組換型 RNase 阻害剤 **RNase Inhibitor, Recombinant**	2,500U×1 本 (2,500U×1 本)×5	SIN-201 SIN-201X5

【製造・販売元】

－納期・注文に関するお問い合わせ－

東洋紡株式会社　ライフサイエンス事業部（大阪)
〒530-8230　大阪市北区堂島浜二丁目 2 番 8 号
TEL 06-6348-3786　FAX 06-6348-3833
E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

東洋紡株式会社　ライフサイエンス事業部（東京)
〒141-8633　東京都品川区東五反田二丁目 10 番 2 号　東五反田スクエア
TEL 03-6422-4819　FAX 03-6422-4951
E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

－製品の内容・技術に関するお問い合わせ－

テクニカルライン
TEL 06-6348-3888　FAX 06-6348-3833
開設時間　9:00～12:00 , 13:00～17:00　(土、日、祝を除く)
E-mail : tech_osaka@toyobo.jp
［URL］http://www.toyobo.co.jp/bio